

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD



**Geminologické metody (dvojčecí studie) při studiu
genetických faktorů onemocnění**

**Gemellologic methods (twins studies) in studying
genetic factors of diseases**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Veronika Mizerová

Vedoucí bakalářské práce: PharmDr. Miroslav Kovařík, Ph.D.

HRADEC KRÁLOVÉ, 2016

Poděkování

Ráda bych zde poděkovala vedoucímu bakalářské práce PharmDr. Miroslavu Kovaříkovi, Ph.D. za jeho cenné rady a čas, který mi věnoval při řešení dané problematiky.

Dále bych ráda poděkovala mé rodině a přátelům, za podporu během studia.

„Prohlašuji, že tato bakalářská práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové 14. 4. 2016

Veronika Mizerová

Abstrakt:

Tato práce v první části obecně shrnuje genetiku monozygotních a dizygotních dvojčat, popisuje rozdíly a podobnosti při přenosu genetické informace. V dalších částech se zabývá geminologickými metodami a jejich využitím při studiu genetických faktorů onemocnění. V poslední části se věnuje dědičnosti komplexních znaků a epigenetice u dvojčat.

Klíčová slova: dvojčecí studie, monozygotická a dizygotická dvojčata, genetické faktory

Abstract:

This work in its first part generally sums up the genetics of monozygotic and dizygotic twins, describes the differences and similarities during the transfer of the genetic information. In further parts it deals with the methods of geminology and their application to the genetic factors of diseases. In the last part it concerns with the heredity of complex characteristics and epigenetics in twins.

Keywords: twin studies, monozygotic twins, dizygotic twins, genetic factors

Obsah

1	Úvod.....	- 7 -
2	Zadání bakalářské práce - cíl práce.....	- 8 -
3	Rozdělení dvojčat.....	- 9 -
3.1	Monozygotní dvojčata	- 9 -
3.1.1	Bichoriální biamniální dvojčata	- 9 -
3.1.2	Monochoriální biamniální dvojčata	- 9 -
3.1.3	Monochoriální monoamniální dvojčata	- 10 -
3.1.4	Siamská dvojčata.....	- 10 -
3.2	Dizygotní dvojčata.....	- 11 -
3.3	Určení zygozity a poměr MZD: DZD	- 11 -
4	Geminologické metody/ dvojčecí studie.....	- 12 -
4.1	Konkordance/ Diskordance	- 13 -
4.2	Klasické dvojčecí metody.....	- 14 -
4.3	Co-twin control metody.....	- 15 -
4.4	Biometrické genetické metody	- 15 -
4.5	Metody zjišťování.....	- 16 -
4.5.1	Populační studie	- 16 -
4.5.2	Dobrovolnické studie	- 16 -
4.5.3	Studie jednotlivců.....	- 16 -
5	Dědičnost komplexních znaků	- 17 -
6	Epigenetika u dvojčat	- 19 -
6.1	Epigenetické mechanismy	- 19 -
6.2	Epigenetické studie dvojčat.....	- 21 -
7	Výběr onemocnění s prokázaným genetickým vlivem	- 23 -
7.1	Revmatoidní artritida.....	- 23 -
7.2	Autismus.....	- 27 -

7.3	Schizofrenie	- 29 -
7.4	Obezita.....	- 31 -
7.5	Onemocnění štítné žlázy.....	- 33 -
7.6	Nádorová onemocnění.....	- 35 -
8	Závěr	- 37 -
9	Použité zkratky.....	- 38 -
10	Seznam tabulek.....	- 39 -
11	Seznam obrázků.....	- 40 -
12	Citovaná literatura	- 41 -

1 Úvod

Geminologické metody nám pomáhají objasňovat etiologii některých onemocnění. Pomocí nich můžeme odhadnout, zda je příčina vzniku nemoci geneticky determinována, nebo jestli jde o vlivy vnějšího prostředí. Se vzrůstající prevalencí a incidencí polygenně vázaných chorob, jako jsou například nádorová onemocnění, obezita či schizofrenie, je důležité znát příčiny vzniku těchto nemocí a hledat způsoby jak jim případně předejít. Studium dvojčat se zabývalo už nespočet autorů po celém světě. Avšak dvojčecí studie jsou velmi časově náročné a ne vždy plně průkazné.

Tato práce v první části shrnuje rozdíly při přenosu genetické informace u monozygotních a dizygotních dvojčat. Dále popisuje principy geminologických metod, dědičnosti komplexních znaků a věnuje se epigenetice u dvojčat. V dalších částech se zabývá studiem genetických faktorů u vybraných onemocnění.

2 Zadání bakalářské práce - cíl práce

Cílem této práce je vypracování literární rešerše z odborné literatury a odborných databází k současnému stavu řešené problematiky dědičnosti komplexních znaků u monozygotních a dizygotních dvojčat. Dále pomocí geminologických metod (dvojčecích studií) osvětlit problematiku u vybraných onemocnění s prokázaným genetickým vlivem, jako jsou revmatoidní artritida, autismus, schizofrenie, obezita, onemocnění štítné žlázy a nádorová onemocnění.

3 Rozdělení dvojčat

3.1 Monozygotní dvojčata

Monozygotní dvojčata (dále jen MZD) jsou jedinci s totožnou genetickou informací. Obecně můžeme považovat vznik dvojčat za abnormální. Při normálním oplození dochází ke splynutí dvou haploidních pohlavních buněk, pouze jednoho vajíčka a jedné spermie (Šípek, 2010). Obě dvě gamety vznikly meiotickým dělením z buněk diploidních a obsahují tedy jednu sadu chromozomů. Haploidní gamety fúzí a vytvářejí diploidní buňku - zygotu, ze které se vyvíjí díky mitotickému dělení nový jedinec (Alberts, 1998). Ihned po oplození začíná rýhování zygoty. Další vývojová stádia se nazývají morula, blastocysta a gastrula (Neradil, 2012).

MZD se vyvíjí z jedné zygoty a jsou tedy geneticky identická (Šípek, 2012). V dnešní době však existují molekulárně biologické metody, jak lze tyto dva geneticky identické jedince odlišit. Ostatní sourozenci i dizygotní dvojčata (dále jen DZD) nenesou stejnou genetickou výbavu (Alberts, 1998). MZD jsou genotypově až na jisté výjimky stejná. Mají stejná pohlaví, ale fenotypově se mohou v menší míře odlišovat (Tauwinklová, 2011). Například výškou jedince, vnímavostí k alergenům či nemocem. U MZD dochází k oplození jednoho vajíčka jednou spermií, ale v raném embryonálním vývoji nastane plnohodnotné rozdělení zygoty na dvě části.

Podle toho v jakém období se zygota dělí, můžeme MZD klasifikovat dle chorionicity a amnionicity viz obrázek 1 (Tauwinklová, 2011). MZD tvoří asi 0,42 % všech gravidit (Papanikolaou, a další, 2010).

3.1.1 Bichoriální biamniální dvojčata

Bichoriální biamniální dvojčata, jsou dvojčata, u kterých došlo k rozdělení zygoty mezi 1. až 3. dnem po oplození, tedy v období vzniku moruly, ještě před diferenciací embryonálních buněk (Neradil, 2012). Následně se vytváří dva choriony a dva amniální vaky. Tento typ dvojčat tvoří asi 25-30 % MZD (Tauwinklová, 2011).

3.1.2 Monochoriální biamniální dvojčata

U monochoriálních biamniálních dvojčat dochází k rozdělení mezi 4. až 8. dnem po oplození, v období preimplantační blastocysty. Buňky tvořící blastocytu se nazývají trofoblast, z nich derivují přídatné embryonální orgány jako amnion a chorion. Proto v tomto

období dochází ke sdílení chorionu, ale amniální vaky se vytvářejí dva. Tento typ dvojčat tvoří 70-75 % MZD (Tauwinklová, 2011).

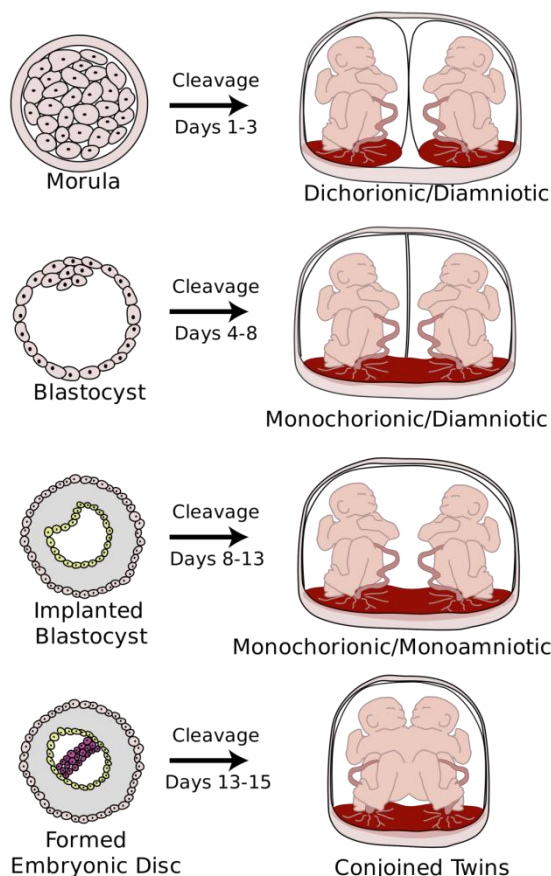
3.1.3 Monochoriální monoamniální dvojčata

Monochoriální monoamniální dvojčata vznikají, pokud se zygota rozdělí mezi 8. až 13. dnem po oplození, v období postimplantační blastocysty. Plody mají společný chorion i amniální vak. Takto vzniká asi 1-2 % MZD (Tauwinklová, 2011).

3.1.4 Siamská dvojčata

U siamských dvojčat dochází k částečnému rozdělení embrya mezi 13. až 15. dnem. V tomto období nedojde k úplnému oddělení a embrya zůstávají spojena. Tvoří asi 1 % MZD (Tauwinklová, 2011).

Obrázek 1 - Rozdělení monozygotních dvojčat dle chorionicity a amnionicity



Cleavage - rýhování, dichorionic/diamniotic - bichoriální/biamniální, monochorionic/diamniotic - monochoriální/ biamniální, monochorionic/monoamniotic - monochoriální/monoamniální, conjoined twins - siamská dvojčata, morula - morula, blastocyst - blastocysta, implanted blastocyst - postimplantační blastocysta, formed embryonic disc - vytvořený embryonální disk

zdroj: převzato z (Dufendach, 2008)

3.2 Dizygotní dvojčata

Na rozdíl od MZD, DZD vznikají oplozením dvou oocytů dvěma spermii. V jednom menstruačním cyklu se uvolní dvě vajíčka. DZD nemají totožnou genetickou výbavu, protože se vyvíjejí jako dva samostatní jedinci. Jako jakýkoli sourozenecký pár, sdílejí polovinu genetické informace (Šeda, a další, 2005-2006).

Nejčastěji jsou DZD bichoriální a biamniální, ale v jistých případech může docházet k tomu, že mohou mít společný chorion. Tento případ může nastat například při umělém oplodnění, kdy se při transferu dvou embryí, nacházejí embrya v těsné blízkosti (Tauwinklová, 2011).

Výskyt DZD se liší demograficky a tvoří asi 0,6 % porodů v Asii, 1-2 % v USA a v Evropě a Africe to jsou přibližně 4 % (Tauwinklová, 2011).

3.3 Určení zygozity a poměr MZD: DZD

Určení zygozity je nezbytné pro správné provedení dvojčecích studií. To je samozřejmě nutné pouze v případě, že se jedná o dvojčata se stejným pohlavím. Nejspolehlivější metodou určení zygozity je genotypizace a fingerprinting DNA. Pomocí těchto metod lze určit totožnost osoby na základě polymorfismů sekvencí určitých úseků DNA (např. mikrosatelitů a minisatelitů). Určení genotypu je zatíženo minimální chybou, maximálně 1% (Hawkes, 1997).

Další možností je kombinace metod: analýza krevních skupin, určení typů haptoglobinu, nebo zkoumání dermatoglyfů atd. Pokud všechny testy vychází souhlasně u obou dvojčat, je zde velká pravděpodobnost, že se jedná o MZD. Mállokdy se stane, že je zygozita určena špatně (Hawkes, 1997).

Poměr MZD a DZD je zhruba 1:2. Zatímco porodnost MZD je celosvětově relativně konstantní, míra porodnosti DZD v různých zemích je velmi rozdílná. Důvodem jsou pravděpodobně léčba neplodnosti a umělá oplodnění.

4 Geminologické metody/ dvojčecí studie

Dvojčecí studie jsou schopné hodnotit do jaké míry je určitý znak dán geneticky a z jaké části jde o vlivy prostředí (Hawkes, 1997). Využívá se genetické identity MZD a genetické rozdílnosti DZD. Princip dvojčecích studií je založen na skutečnosti, že všechny rozdíly ve fenotypu MZD jsou dány vlivem prostředí. Naproti tomu u DZD, jsou rozdíly ve fenotypu dány jednak vlivem prostředí, tak i genetickou výbavou (Šeda, a další, 2005-2006). Na tomto principu byly vyvinuty statistické metody k odhadu heritability (Otová, a další, 2013).

Heritabilita neboli dědivost značí, do jaké míry je daný znak podmíněn geneticky. Týká se to nejen kvantitavních znaků, ale také mnoha polygenně dědičných chorob. Jde o hodnotu, která udává míru dědičného určení znaku. Vyjadřujeme ji tzv. koeficientem heritability h^2 , který odráží společný vliv genotypu i faktorů vnějšího prostředí:

$$h^2 = \frac{V_G}{V_P}$$

*h^2 - koeficient heritability, V_G - genotypová variability, V_P - fenotypová variability
Zdroj: převzato z (Kočárek, 2008)*

Hodnoty geneticky podmíněné a fenotypové variability určujeme statistickými výpočty jako rozptyl neboli varianci měřených hodnot (jde o druhou mocninu směrodatné odchylky) (Kočárek, 2008). Koeficient heritability nabývá hodnot od 0 do 1, přičemž $h^2=0$ značí, že je znak podmíněn prostředím a $h^2=1$ značí, že je znak podmíněn geneticky, nebo se vyjadřuje v procentech (Urban, 2008).

V praxi, lze heritabilitu vypočítat pomocí znalosti variance znaku u MZD a DZD. Variance je statistická hodnota, která slouží k vyjádření rozdílnosti naměřených hodnot. Vycházíme z předpokladu, že variance u MZD je způsobena pouze vnějšími faktory (Červinka, 2014). Pokud sledujeme shody a rozdíly ve výskytu určitého znaku u MZD a DZD, lze heritabilitu odhadnout podle vzorce:

$$H = \frac{K_{DZD} - K_{MZD}}{100 - K_{DZD}}$$

*H - heritabilita v procentech, K_{MZD} - konkordance u MZD (procentuální podíl párů MZD, kde se sledovaný znak objevil u obou jedinců), K_{DZD} - konkordance u DZD (procentuální podíl párů DZD, kde se sledovaný znak objevil u obou jedinců)
Zdroj: převzato z (Kočárek, 2008)*

4.1 Konkordance/ Diskordance

U geminologických metod se zjišťuje konkordance, tedy shoda a diskordance - rozdílnost uvnitř dvojčecího páru pro sledovaný znak. Porovnáním konkordance MDZ a DZD lze odhadnout poměr genetické a negenetické determinace daného znaku (Šeda, a další, 2005-2006). Konkordanci lze vyjádřit jako podíl počtu párů dvojčat, kde mají znak obě dvojčata, z celkového počtu dvojčat, kde má tento znak pouze jedno (Houdek, 2010). Pokud nalezneme větší shodu mezi MZD, než mezi DZD, lze usuzovat, že jde převážně o genetickou determinaci sledovaného znaku. Pokud ale není konkordance mezi MZD úplná, svědčí to pro ovlivnění znaku prostředím.

Jako konkordantní dvojčata, označujeme ta, která vykazují stejné onemocnění či znak. Míra konkordance nabývá 90-100 %, přičemž geny jsou za znak plně zodpovědné. Pokud znak vykazuje pouze jedno ze dvojčat, označujeme je jako diskordantní dvojčata, přičemž se geny neuplatňují (Hawkes, 1997).

Konkordanci lze velmi dobře sledovat na dvojčatech, která byla ihned po narození oddělena a vychovávána v rozdílném prostředí (Šípek, 2012).

Ve dvojčecích studiích často používáme tři rozdílné míry konkordance, párovou míru (zde označováno A), „probandwise“ míru konkordance (zde označováno B) a „casewise“ míru konkordance (zde označováno F) (Carey, 2000), (Duncan, 2004).

Párová míra konkordance, je odhad podílu konkordantních dvojčat v populaci, lze ji vypočítat pomocí vzorce:

$$A = \frac{C}{C + D}$$

A - párová míra konkordance, C - celkový počet konkordantních dvojčecích párů, D - množství diskordantních párů

Zdroj: převzato z (Carey, 2000)

„Probandwise“ míra konkordance, je odhad rizika vzniku nemoci u probanda s postiženým dvojčetem, vypočítá se pomocí vzorce:

$$B = \frac{2 * C_1 + C_2}{2 * C_1 + C_2 + D}$$

B - „probandwise“ míra konkordance, C₁ - množství studovaných konkordantních dvojčecích párů, přičemž jsou zkoumáni oba dva jedinci, C₂ - množství zkoumaných konkordantních dvojčecích párů, přičemž je zkoumán pouze jeden z dvojčecího páru, D - množství diskordantních dvojčecích párů

Zdroj: převzato z (Carey, 2000)

„Casewise“ míra konkordance je odhad pravděpodobnosti toho, že sourozenec postiženého bude také postižen:

$$F = \frac{2 * C}{2 * C + D}$$

F - „casewise“ míra konkordance, C - celkový počet konkordantních dvojčecích párů, D - množství diskordantních párů

Zdroj: převzato z (Duncan, 2004)

Geminologické metody můžeme rozdělit na tři následující: Klasické dvojčecí metody, Co-twin control metody a biometrické genetické metody.

4.2 Klasické dvojčecí metody

Hlavním cílem klasických dvojčecích metod je porovnat poměry konkordance u MZD a DZD s prevalencí daného znaku v populaci. Jestliže je poměr konkordance u MZD významně vyšší, než u DZD, znamená to, že je příčina nemoci podmíněna geneticky. Přibližně stejná konkordance MZD a DZD značí vliv prostředí. Jednoduchým příkladem může být studie epilepsie, viz tabulka 1 (Hawkes, 1997).

Tabulka 1 - Údaje o epilepsii u dvojčat

	MZD			DZD		
	n	C	%	n	C	%
Poranění mozku	37	4	11	67	5	8
Bez poranění mozku	47	33	70	54	3	6

n - počet zkoumaných párů; C - skutečný počet shodných párů (konkordance); % - vyjádření konkordance v procentech

Pokud byl záznam o poranění mozku, jsou procentuální hodnoty konkordance u MZD a DZD přibližně srovnatelné (MZD= 11 %, DZD= 8 %), lze odvodit, že jde hlavně o vlivy prostředí. Pokud ale není poranění mozku zaznamenáno, jsou procentuální hodnoty konkordance výrazně vyšší u MZD (MZD= 70 %, DZD= 6 %), což svědčí o genetické příčině vzniku epilepsie v této skupině. Neznamená to však, že všechny netraumatické příčiny epilepsie jsou dědičné!

zdroj: převzato a přepracováno z (Hawkes, 1997)

4.3 Co-twin control metody

V metodách co-twin control jsou zkoumány diskordantní MZD, to znamená, že jedno z páru MZD danou nemoc či znak nevykazuje. Nepostižené dvojče se označuje jako, co-twin. Existují vzácné případy, kdy je každé z MZD vychovááno v odlišném prostředí. Takovéto páry poskytují perfektní kontrolní páry a jde o velmi cenný zdroj informací. Proto se MZD na celém světě evidují (Hawkes, 1997), (Červinka, 2014).

4.4 Biometrické genetické metody

V genetice kvantitativních znaků se využívá biometrických genetických metod, jejichž cílem je popsat genetickou strukturu populací - odhad komponent variance a kovariance. Kvantitativní znaky jsou podmíněny více geny a výsledný fenotyp je dán součtem genetických faktorů a faktorů prostředí. Rozdíly mezi fenotypovými hodnotami jsou výsledkem působení genotypu a prostředí a lze sledovat jejich variabilitu. Množství variability můžeme měřit a vyjadřuje se jako variance (rozptyl). Varianci vyjadřujeme jako čtverce odchylek od průměru populace (Urban, 2008).

Biometrické metody mohou popsat genetické změny výstavby populací. Tyto metody se zabývají rizikovými faktory onemocnění, normálními aspekty chování či fyzickými, nebo mentálními charakteristikami. Pokud je dostatečné množství dvojčecích párů, mohou tyto metody zkoumat náchylnost k nemoci, nebo určit kategorii onemocnění (Hawkes, 1997).

Biometrické genetické metody spočívají na lineárních biometrických modelech, pomocí kterých se hodnotí. Z fenotypové variance odhadujeme varianci genetickou, ta se využívá k odhadům dalších genetických parametrů (např. koeficient heritability, genetické korelace) (Urban, 2008).

Podobnost mezi MZD vyjadřujeme statisticky pomocí korelačního koeficientu r . Hodnota korelačního koeficientu nabývá hodnot od -1 do $+1$. Hodnota -1 odpovídá absolutní negativní korelaci mezi znaky jedinců. A hodnota $+1$ odpovídá absolutní pozitivní korelaci. Když je hodnota rovna nule, tak není mezi hodnotami žádná korelace. MZD mají hodnotu korelačního koeficientu $0,84$, což značí silnou pozitivní korelaci (Houdek, 2010).

4.5 Metody zjišťování

4.5.1 Populační studie

Díky přístupu do národního registru dvojčat, dosahují populační studie ideálních výsledků a nejnižšího zkreslení. U postižených dvojčat lze pomocí registru nemocí identifikovat choroby. Výhodou takových registrů je velké množství registrovaných dvojčecích párů a předsudky spojené s odběrem vzorků by měly být minimální. Takovéto studie jsou však velmi nákladné a je nezbytné, aby výzkum a shromažďování dat trvali dlouho (Hawkes, 1997).

4.5.2 Dobrovolnické studie

Jsou velmi populární, ale méně systematické. Vědci zkoumají nemocniční záznamy a hledají indexy chorob. Mnohé z těchto metod jsou zkreslené a mohou vést ke zvýšení poměru konkordance u MZD (Hawkes, 1997).

4.5.3 Studie jednotlivců

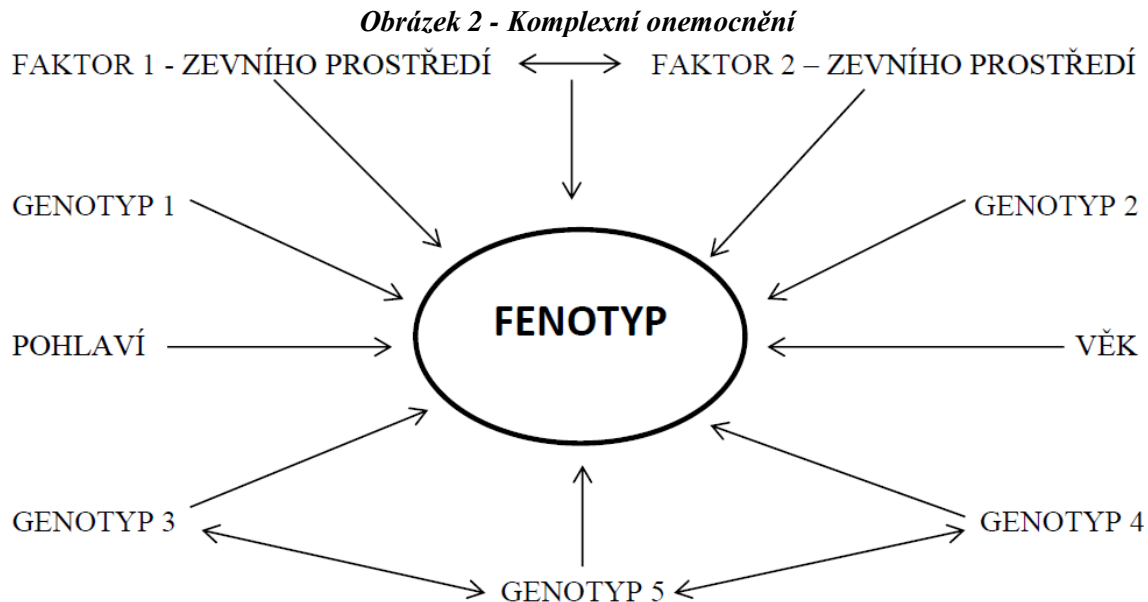
Podstatou těchto studií je zkoumání diskordantních dvojčecích párů. Především hodnotné jsou studie o MZD, která byla vychovávána odděleně. Tyto dvojčata sdílí pouze genetickou informaci a ne prostředí a výchovu. V případě, že je řada takových dvojčat konkordantních pro danou poruchu a jejich četnost je vyšší než pravděpodobnost, poskytuje to mnohem pádnější důkazy o genetických faktorech v etiologii nemoci. Například bylo zjištěno, že 3 z 5 oddělených MZ dvojčecích párů byly konkordantní pro migrenózní stavy. Bohužel takováto dvojčata jsou velmi vzácná (Hawkes, 1997).

5 Dědičnost komplexních znaků

Genetické choroby můžeme rozdělit na monogenní, chromozomální a multifaktoriální. S chromozomální poruchou se rodí zhruba 0,6 % dětí. Monogenní choroby jsou způsobeny mutací jednoho genu, až 10 % populace se s takovou chorobou rodí nebo jí v průběhu života onemocní. S multifaktoriálním onemocněním se rodí, nebo jím v průběhu života onemocní zhruba 80 % populace, jde o nejčastější typ dědičnosti (Maříková, a další, 2013).

Multifaktoriální choroby můžeme rozdělit do tří skupin. Choroby s kontinuální distribucí v populaci, kam patří například obezita a poruchy růstu. Vrozené vývojové vady, jako jsou rozštěpy patra a vrozené srdeční vady. A komplexní choroby/ znaky, mezi ně se řadí většina nádorových a psychických onemocnění (Maříková, a další, 2013).

Komplexní znaky jsou ovlivněny jak genetickými faktory, tak faktory vnějšího prostředí. Soubor všech faktorů se projeví ve fenotypu (viz obrázek 2). Komplexní znaky jsou podmíněny mnoha geny, tzv. polygenní dědičnost a většinou se jedná o geny malého účinku. U komplexních chorob odhadujeme heritabilitu – ta určuje podíl genetických faktorů na proměnlivosti znaku (Houdek, 2010), (Maříková, a další, 2013).



Epidemiologickou charakteristikou komplexních onemocnění je statistická kumulace v rodinách. Pokud má daný znak v rodinách významně zvýšenou frekvenci, jedním z možných důvodů je vyšší míra sdílení genů mezi členy rodiny. Z těchto údajů můžeme odhadovat riziko manifestace znaku u příbuzných s koeficientem příbuznosti 0,5. Například

má-li jeden z rodičů diabetes 2. typu, pravděpodobnost výskytu u jeho potomků je asi 40 %, jsou-li postiženi oba rodiče, riziko se zvyšuje na 70 % (Šeda, a další, 2005-2006).

Studie dvojčat přispěly velkou měrou k prvotní identifikaci genetické složky řady komplexních onemocnění. Porovnáním konkordance u MZD a DZD je možné odhadovat poměr genetické a negenetické determinace daného znaku (Šeda, a další, 2005-2006).

Při zkoumání genetické komponenty komplexních znaků používáme v zásadě dva postupy. První způsob vychází z již existující znalosti vztahu daného genu ke konkrétnímu onemocnění. Druhý způsob vychází výlučně z identifikace oblasti genomu, kde se na základě vazebných studií nachází místo, které významně ovlivňuje variabilitu zkoumaného znaku (Šeda, a další, 2005-2006).

V genetické analýze komplexních znaků se využívá metod vazebné analýzy a asocičních studií. Ve vazebné analýze komplexních znaků, se nejčastěji užívá neparametrických metod, ty zkoumají zda postižení jedinci v rámci rodiny, či souboru dvojčat nesdílejí některé alely častěji. Tyto alely se testují pomocí genotypizace, využívá se znalosti polymorfismů, například mikrosatelitů. Asociační studie se přímo zaměřují na vztah mezi alelou nebo konkrétním genem a onemocněním. Mají většinou charakter „case-control“, tedy případu (skupina vykazující onemocnění) a kontroly (zdravá skupina). Následně je porovnáváno relativní zastoupení určitého polymorfismu mezi těmito skupinami. Pokud je nalezena asociace mezi zkoumanou genetickou variantou a onemocněním, lze předpokládat, že tato alela nějakým způsobem s onemocněním souvisí (Šeda, a další, 2005-2006).

Hlavním problémem studia genetické složky komplexních onemocnění je samotné vymezení analyzované nosologické jednotky. Mnoho chorob (autismus, schizofrenie, obezita apod.) představuje souhrn geneticky odlišných onemocnění. Mezi zásadní problémy analýzy patří: polygennost (fenotyp je výsledkem působení více genů, které spolu interagují a faktorů vnějšího prostředí), genetická heterogenita (znamená více příčin onemocnění – danou chorobu mohou způsobit mutace v různých genech), různý věk nástupu nemoci, neúplná penetrance (stav, kdy ne u všech majitelů nesoucí alelu pro danou chorobu, dojde k propuknutí nemoci) a fenokopie (projev daného fenotypu u jedinců, kteří nezdědili příslušnou patologickou alelu).

6 Epigenetika u dvojčat

Epigenetika je věda o změnách fenotypu, které nejsou způsobené genetickými faktory. Jde o změny v genové expresi, aniž by byla změněna genetická informace. Signál z vnějšího prostředí ovlivňuje informaci řídící expresi genů a samotný signál pak řídí navázání regulačních proteinů na DNA. Mluvíme o tzv. epigenetických mechanismech – metylace DNA, modifikace histonů a regulace pomocí mikroRNA (Maříková, a další, 2013).

Dvojčecí studie hrály klíčovou roli v odhadování fenotypové heritability. Epigenetické studie dvojčat nám pomáhají porozumět, jaký dopad mají genetické, environmentální a náhodné faktory na epigenetiku a jak epigenetické variace ovlivňují komplexní znaky. Vysoká míra diskordance u MZD pro běžné choroby naznačuje, že se na přenosu genetické informace podílejí i vnější a epigenetické faktory (Bell, a další, 2011).

6.1 Epigenetické mechanismy

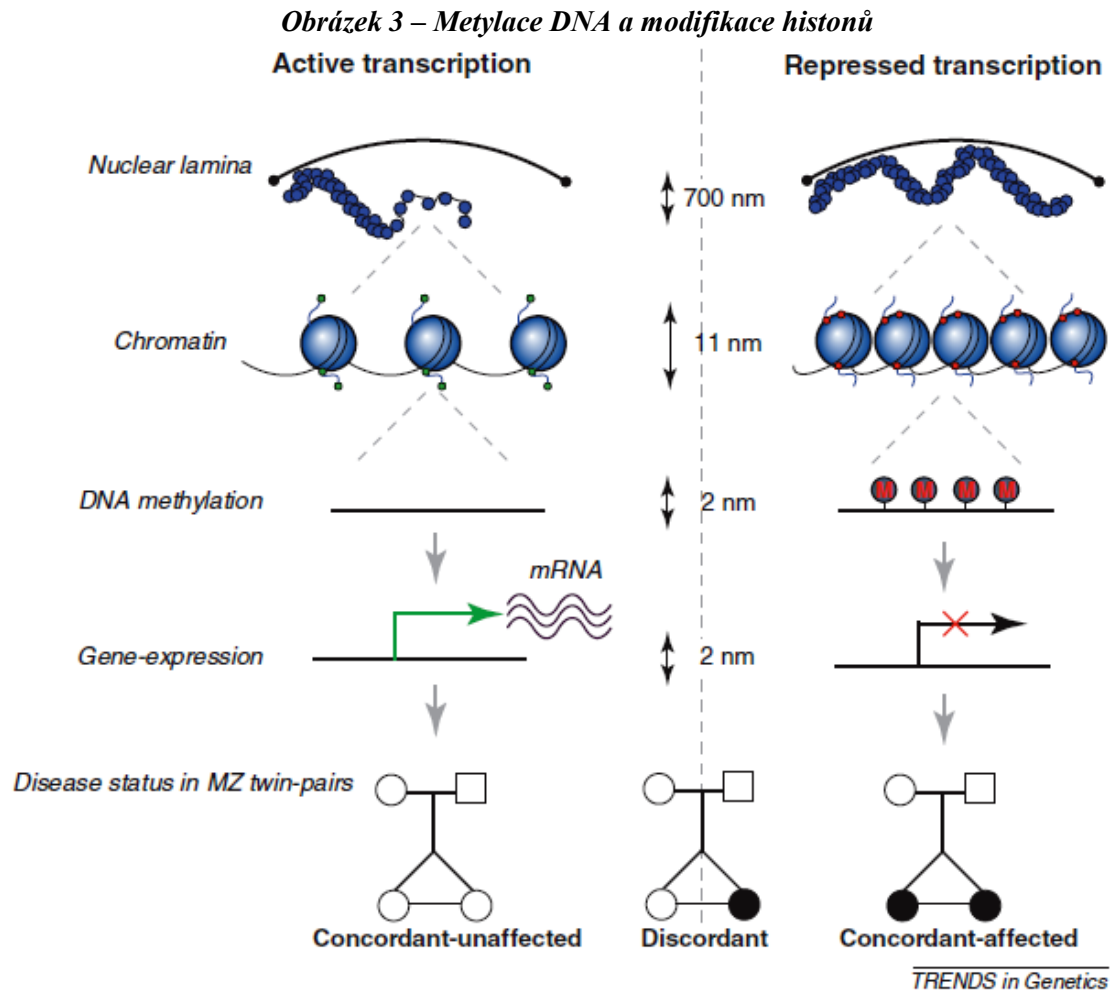
Původně termín epigenetika popisoval interakci mezi genetickou složkou a prostředím, která vedla v průběhu vývoje ke změně fenotypu. Dnes epigenetika studuje změny v genové expresi, které jsou dědičné, reverzibilní, ale aniž by docházelo ke změnám v sekvenci nukleotidů DNA. Tedy beze změny primární struktury (Bell, a další, 2011), (Holliday, 1994), (Russo, 1996), (Waddington, 1942).

V současné době epigenetické mechanismy zahrnují modifikaci histonů, metylaci DNA a další mechanismy zapojené do vytváření a udržování struktury chromatinu. Epigenetické mechanismy fungují jako regulátory transkripce ve složitých organismech (Bell, a další, 2011).

Histony jsou bazické bílkoviny a podílejí se na prostorovém uspořádání jaderného chromatinu. Tvoří strukturní oporu pro vlákno DNA. Čtyři typy histonů (H2A, H2B, H3 a H4) se podílejí na sbalení vlákna do nukleosomu. A histon H1 propojuje nukleosomy mezi sebou. Kovalentní modifikace histonů se uskutečňuje acetylací, metylací nebo fosforylací, pomocí katalytických enzymů acetyltransferáz, metyltransferáz a deacetyláz. Klinicky se tyto změny mohou projevit zvýšeným výskytem onemocnění (Hrubá, a další, 2012).

Methylace DNA byla rozsáhle studována u savců a jedná se o nejčastější modifikaci DNA u eukaryot (viz obrázek 3). Methylace probíhá na pátém uhlíku pyrimidinového kruhu cytozinu, obvykle k ní dochází na dinukleotidu. Tedy na dvou nukleosidech vázaných fosfátem (cytosin-P-guanosin). Methylace vede většinou k inaktivaci příslušných genových

oblastí. DNA metylace je zprostředkována DNA metyltransferasou, která je zodpovědná za „de novo“ metylaci během raného vývoje (Bell, a další, 2011), (Ramsahoye, 2000).



Active transcription – aktivovaná transkripce, repressed transcription – zastavená transkripce, nuclear lamina – jaderná lamina, chromatin – chromatic, DNA methylation – DNA metylace, gene-expression – genová exprese, disease status in MZ twin-pairs – stav onemocnění u MZD, concordant-unaffected – konkordantní nepostižená dvojčata, discordant – diskordantní dvojčata, concordant-affected – konkordantní postižená dvojčata,

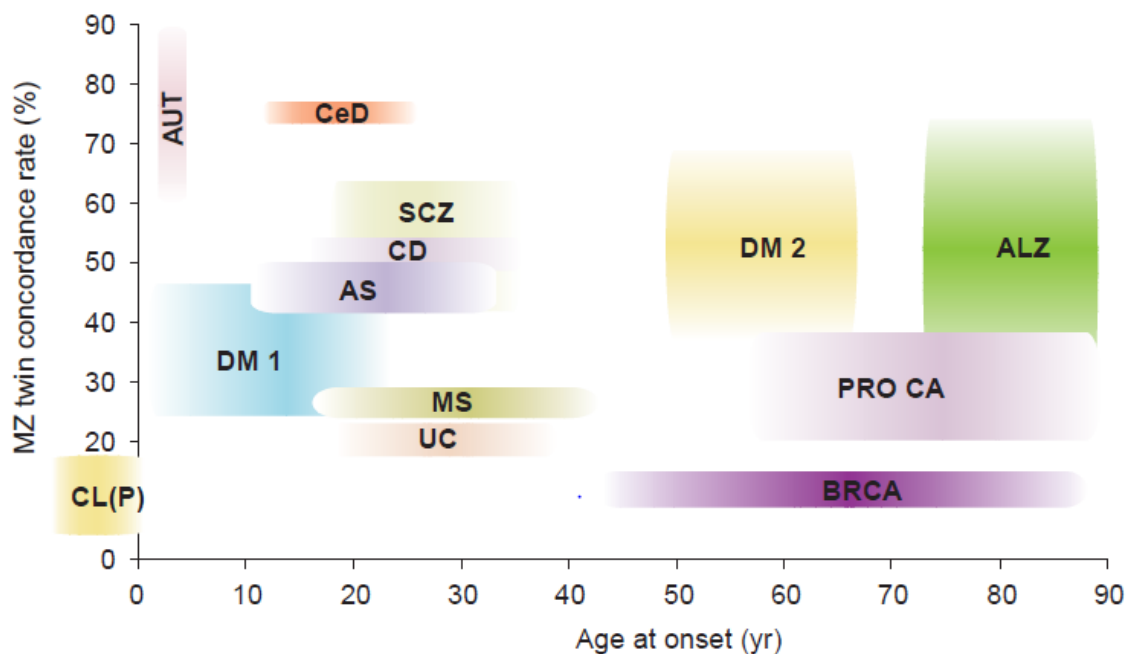
Obrázek popisuje epigenetické změny a jejich účinky na transkripci a na vznik onemocnění u MZD. Jsou zde uvedeny epigenetické varianty na více úrovních struktury chromatinu. Rozvolněný chromatin (aktivní) a hustě uspořádaný (neaktivní) chromatin. Modifikace histonů spojené s aktivovanou transkripcí (zelená) a transkripčním umlčením (červená) jsou naznačeny pomocí barevných teček. Další úroveň rozlišení popisuje metylaci DNA (červená M) v promotorových oblastech genů, s tlumivým účinkem na genovou expresi. Pomocí genealogických značek jsou popsány možné účinky těchto změn na stav onemocnění ve vzorku MZD.

Zdroj: převzato z (Bell, a další, 2011)

6.2 Epigenetické studie dvojčat

Ve studii Fraga a dalších, vyšetřovali rozdíly v metylaci DNA a modifikaci histonů na kohortě 40 párů MZD, ve věku od 3 do 74 let. Vzorky DNA byly získávány z periferní krve, ze stěru bukalní sliznice a z biopsie kosterního svalstva. Vědci dospěli k závěru, že je zde na věku závislý epigenetický drift, tedy že se stoupajícím věkem, by se měl zvyšovat i počet epigenetických změn. Nicméně to neplatí pro všechna komplexní onemocnění. Například míra konkordance u Alzheimerovy choroby, která se projevuje okolo osmdesátého roku života, byla asi 83 %. A míra konkordance u diabetu mellitu 1. typu, byla pouze 23 %. Pouze u 35 % párů dvojčat ze studované kohorty byly detekovatelné epigenetické rozdíly v metylaci DNA a modifikaci histonů. Z obrázku 4 lze vyčíst rozdílné míry konkordancí u MZD u některých komplexních onemocnění (Fraga, 2005), (Petronis, 2006).

Obrázek 4 – Věk nástupu a míra konkordance u různých onemocnění u MZD



TRENDS in Genetics

MZ twin concordance rate (%) – míra konkordance u MZD v procentech, age at onset – věk nástupu onemocnění, CL(P) – rozštěp patra, dochází k němu v průběhu embryogeneze, a tudíž se vyskytuje na levé straně grafu, AUT – autismus, CED – celiakie, SCZ – schizofrenie, CD – Crohnova nemoc, AS – astma, DM1 - diabetes mellitus 1. typu, DM2 - diabetes mellitus 2. typu, MS - roztroušená skleróza, UC - ulcerózní kolitida, BRCA - rakovina prsu, PRO CA - rakovina prostaty, ALZ - Alzheimerova choroba

Levý a pravý okraj každého tvaru představuje věk nástupu onemocnění, a horní a dolní okraj představuje nejnižší a nejvyšší míru konkordance pro každou chorobu.

Zdroj: převzato z (Petronis, 2006)

Ze studie Heyna a dalších vyplývá, že epigenetické mechanismy mohou ovlivňovat i predispozici MZD ke karcinomu prsu. Ve studii bylo zkoumáno 36 párů MZD, z nich 15 bylo diskordantních pro rakovinu prsu. Díky epigenetickým studiím byl objeven gen DOK7, jehož rozdílná metylace, byla v souladu s diskordancí a konkordancí pro karcinom prsu (Heyn, a další, 2012), (Šípek, 2012).

7 Výběr onemocnění s prokázaným genetickým vlivem

7.1 Revmatoidní artritida

Charakteristika onemocnění:

Revmatoidní artritida (dále jen RA) je autoimunitní chronické zánětlivé onemocnění kloubů, charakterizované nespecifickým zánětem periferních kloubů a infiltrací kloubního prostředí zánětlivými buňkami. Dochází k proliferaci kloubní synovie, která destruuje kloubní chrupavku a kost pod chrupavkou. Též jsou charakteristické progresivní eroze kostí a chrupavky, tvorba proteinů akutní fáze a produkce autoprotilátek (Mačák, a další, 2004), (Suchý, 2003).

Nejčastěji jsou postiženy malé klouby rukou, zápěstí, nožní klouby, klouby kolenní a kyčelní. Velmi časté je zduření, bolestivost a ranní ztuhlost kloubů. Podle počtu postižených kloubů se hovoří o monoartritidě, je-li postižen jediný kloub, nebo o polyartritidě při zánětu několika kloubů. Současně může docházet i k rozvoji mimokloubních příznaků, například ke vzniku revmatických uzlů (Suchý, 2003).

Epidemiologie:

Nemoc se vyskytuje asi u 1 % dospělé populace po celém světě, klinické příznaky se uvádějí asi ve 3–4 %. Vyskytuje se prakticky v každém věku, ženy jsou postiženy 2–3krát častěji než muži, což je pravděpodobně způsobeno prozánětlivým působením estrogenu. U žen je vrchol incidence na začátku dospělosti a těsně před menopauzou. U mužů riziko onemocnění s věkem stoupá (Mačák, a další, 2004), (Suchý, 2003).

Etiologie:

Příčina onemocnění nebyla přes intenzivní úsilí do dnešního dne jednoznačně objasněna. Ale existují důkazy o tom, že za vznikem nemoci stojí pravděpodobně jak genetické, tak i vnější faktory. Nově publikované studie prokázaly, přítomnost několika sekvencí DNA spojených s RA a vznik protilátek proti citrulinovaným proteinům (dále jen ACPA), které jsou vysoce specifické pro RA. Alely HLA DR 4 a DR 1 můžeme najít asi u 90 % nemocných (Svendsen, a další, 2013).

Za zevní faktory považujeme virové či bakteriální infekce, které pravděpodobně způsobí počáteční aktivaci imunitního systému. Uvažuje se o viru Epsteina-Barrové, mykoplazmatech, parvovirech a mykobakteriích (Suchý, 2003).

Patogeneze:

Nejvíce je postižena synoviální tkáň, která postupem času zbytnuje a její povrch je při mikroskopickém vyšetření nápadně klkovitě uspořádán. V kloubu dochází k infiltraci zánětlivých buněk. Synoviální tkáň je infiltrována T a B lymfocyty, žírnými buňkami, plazmocyty a makrofágy. Plazmocyty produkují imunoglobuliny IgG a IgM, současně vytvářejí valnou část revmatoidního faktoru (protilátka, většinou ze skupiny IgM, proti Fc fragmentu IgG). Infiltrované buňky produkují cytokiny a dochází k syntéze interleukinů 1 a 2 a k syntéze faktorů nekrotizující nádory - TNF alfa a beta (TNF alfa má především protizánětlivý účinek). Druhotně dochází k patologickým změnám v kloubní tekutině, chrupavce, kosti a periartikulárních strukturách. V synoviální membráně kloubního pouzdra probíhá novotvorba cév a proliferace vaziva. Výsledkem je pannus, což je vaskularizovaná granulační tkáň, ta přerůstá chrupavku a tím ji narušuje (Mačák, a další, 2004), (Suchý, 2003).

Studie:

Nejcitovanější odhad heritability u RA okolo 60 % byl odvozen od dvou dvojčecích studií z Finska a Velké Británie. Finská populační studie čerpala informace z národního registru dvojčat a z registru zdravotních pojišťoven, ale nebyla zde provedena diagnostická validace metod. Ve finské studii byl odhad „probandwise“ konkordance u MZD 22,0 % a 6,7 % u DZD stejného pohlaví (dále jen DZD_{ss}). Odhad párové konkordance byl u MZD 12,3 % a u DZD_{ss} se odhad rovnal 3,5 %. Dobrovolnická studie z Velké Británie hledala subjekty z řad veřejnosti, což ale mohlo zkreslit výsledky. Ve dvojčecí studii z Velké Británie byl odhad párové konkordance 15,4 % u MZD a 3,6 % u DZD stejného i opačného pohlaví (dále jen DZD_{ss/os}) (Aho, a další, 1986), (Silman, a další, 1993).

V roce 2002 byla zveřejněna studie Svendsena a dalších, kde byl odhad „probandwise“ konkordance 0,0 % u MZD a 8,8 % u DZD_{ss/os}, což naznačuje, že příčinou vzniku RA byly negenetické faktory. Tato studie byla založena na poštovním průzkumu z roku 1994 a zahrnovala skupiny dvojčat narozených v letech 1921-1930 a v letech 1953-1982 (MacGregor, a další, 1994), (Svendsen, a další, 2002).

Také navazující studie Svendsena a dalších (2013) prokázala velký vliv prostředí v etiologii RA. Informace byly čerpány jednak ze studie Svendsena a dalších (2002) a také z dánského registru dvojčat, který byl později rozšířen a zahrnoval i kohorty z let 1931-1952. Na dotazník odpovědělo 45 280 dotázaných, tedy 80 % (56 707 odeslaných dotazníků). RA byla nahlášena v 479 případech a průměrný věk respondentů byl 52 let (věkové rozmezí 16-73 let). RA byla potvrzena u 162 jedinců. Každý z respondentů prošel klinickým vyšetřením. Prováděla se HLA genotypizace, zkoumala se přítomnost ACPA a přítomnost revmatoidního faktoru. Průměrný diskordantní čas byl 19 let. Hodnota prevalence RA ve sledované populaci činila 0,37 % u mužů i žen. Konkordance u MZD byla 9,1 % a 6,4 % u DZDss. Korelační koeficienty měly hodnotu 0,60 u MZD a 0,55 u DZDss. Příčina RA byla přisuzována v 12,0 % genetickým faktorům, v 50,0 % šlo o vlivy prostředí, přičemž dvojčata vyrůstala společně a v 38,0 % šlo o vlivy prostředí, přičemž dvojčata vyrůstala odděleně. Všechna data jsou přehledně sepsána v tabulce 2 a v tabulce 3. Cílem bylo podat co nejpřesnější informace o příčině vzniku RA v etnicky homogenní populaci dvojčat a studovat riziko recidivy onemocnění. Z této studie vyplývá, že faktory rodinného prostředí hrají velmi důležitou roli v rozvoji RA. Ačkoli jsou genetické faktory též důležité, tak vlivy sdíleného i nesdíleného vnějšího prostředí mají větší význam (Skytthe, a další, 2006), (Svendsen, a další, 2002), (Svendsen, a další, 2013).

Tabulka 2 - Výsledky dvojčecí studie revmatoidní artritidy

Prevalence u MZD i DZD	0,37 %
Konkordance u MZD	9,1 %
Konkordance u DZD_{ss}	6,4 %
Korelační koeficient u MZD	0,60
Korelační koeficient u DZD_{ss}	0,55
Genetické faktory	12,0 %
Vlivy prostředí (sdílené)	50,0 %
Vlivy prostředí (nesdílené)	38,0 %

MZD - monozygotní dvojčata, DZD - dizygotní dvojčata, DZD_{ss} - dizygotní dvojčata stejného pohlaví

Zdroj: informace převzaty z (Svendsen, a další, 2013)

Tabulka 3 - Míry konkordancí u revmatoidní artritidy v dánské populaci dvojčat

Zygozita	Konkordantní páry	Diskordantní páry	Míry konkordance (%)		
			„Casewise“ míra	„Probandwise“ míra	Párová míra
MZD	2	30	13,1	9,1	6,3
DZD _{ss}	4	73	11,7	6,4	5,2
DZD _{ss/os}	1	45	4,3	2,2	2,2

MZD - monozygotní dvojčata, DZD - dizygotní dvojčata, DZD_{ss} - dizygotní dvojčata stejného pohlaví, DZD_{ss/os} - dizygotní dvojčata stejného i opačného pohlaví

Zdroj: informace převzaty a přepracovány z (Svendsen, a další, 2013)

7.2 Autismus

Charakteristika onemocnění:

Podle Mezinárodní klasifikace nemocí patří autismus mezi poruchy psychického vývoje - pervazivní vývojové poruchy. Tyto poruchy jsou charakterizované kvalitativním porušením reciproční sociální interakce na úrovni komunikace a opakujícím se souborem činností (ÚZIS, 2008).

Pokud je autismus diagnostikován do třetího roku života, mluvíme o dětském autismu. Je definován přítomností abnormálního nebo porušeného vývoje. U takových dětí dochází k poruše reciproční sociální interakce, komunikace a vykazují opakující se stereotypní chování. Další nespecifické problémy jsou různé fobie, poruchy spánku a příjmu potravy, návaly zlosti a agrese namířené proti sobě (ÚZIS, 2008).

Epidemiologie:

V šedesátých a sedmdesátých letech minulého století byla zjištěna prevalence dětského autismu 0,44/1000 dětí. Později se začalo hovořit o celé skupině poruch autistického spektra (dále jen PAS). Někteří autoři uvádí průměrnou prevalenci PAS jako 1 % populace. V roce 2000 se výskyt rapidně zvýšil, v různých studiích se hodnota prevalence pohybovala od 5,79 do 26,4 na 1000 dětí (Hosák, a další, 2015).

Etiologie:

Odhadovaná heritabilita je u dětského autismu více než 90 %, z čehož vyplývá, že velký význam má hlavně genetika. Z menší části může být příčinnou autismu vystavení těhotné matky rizikovým faktorům (expozice valproátu, thalidomidu, rubeole a jiným virovým infekcím) (Hosák, a další, 2015).

Patogeneze:

Díky současné technice bylo možno zjistit, že pacienti trpící autismem mají větší objem mozku, mozečku a nucleus caudatus, a naopak menší corpus callosum. Abnormality primárního zpracování zrakové informace pravděpodobně představují podstatný prvek patogeneze sociálního defektu (Hosák, a další, 2015).

Studie:

Za posledních 30 let došlo k výraznému nárůstu výskytu autismu, k tomu také přispěla větší informovanost o této chorobě. Existuje velký počet dvojčecích studií o dětském autismu. Pravděpodobnost výskytu autismu u druhého dvojčete (pokud má první dvojče autismus) je od 3 % do 14,5 %. Všechny studie se shodují na polygenním přenosu dědičné informace (Bolton, a další, 1994), (Constantino, a další, 2010), (Hallmayer, a další, 2011), (Sumi, a další, 2006).

V Kalifornské studii Hallmayera a dalších (2011) bylo zkoumáno 192 párů dvojčat narozených mezi rokem 1987 a 2004, s alespoň jedním autistou v páru nebo s PAS. U dětského autismu, se zkoumala pravděpodobnost toho, že sourozenec autisty bude také autista. Míra „probandwise“ konkordance u chlapců byla 58 % u MZD a 21 % u DZD. U děvčat byla pravděpodobnost výskytu 60 % u MZD a 27 % u DZD. U PAS byla míra konkordance u chlapců 77 % u MZD a 31 % u DZD. U děvčat byla pravděpodobnost toho, že sestra postižená, bude mít také PAS 50 % u MZD a 36 % u DZD (Hallmayer, a další, 2011).

Objev významného vlivu sdíleného životního prostředí u dvojčat s autismem, by mohl být přínosný pro další budoucí výzkumy. Bylo prokázáno, že symptomy autismu začínají být zjevné koncem prvního roku života. Jelikož dvojčata sdílejí prenatální a batolecí vývin společně, mohly by mít vliv na vznik PAS některé z faktorů vnějšího prostředí: věk rodičů, nízká porodní váha, vícečetné porody a infekce matky během těhotenství (Gardener, a další, 2009), (Hallmayer, a další, 2011), (Stoltenberg, a další, 2010).

7.3 Schizofrenie

Charakteristika onemocnění:

Podle Mezinárodní klasifikace nemocí patří schizofrenie mezi duševní poruchy a poruchy chování. Jde o velmi závažné onemocnění, charakteristická je podstatná porucha chování a vnímání. Díky moderním zobrazovacím metodám byly nalezeny jak kvalitativní, tak kvantitativní odchylky v některých částech mozku. Jde o prenatální vývojová poškození, postihující zvláště levé postranní komory a diskrétní strukturální deficity v temporobazálních oddílech mozkové kůry. Tato poškození mozku jsou prokázána u více než 2/3 schizofrenních pacientů. Schizofrenie má většinou chronický průběh (Hosák, a další, 2015), (ÚZIS, 2008), (Fölsch, a další, 2000).

Pro schizofrenii je typická přítomnost bludů, halucinací a podivného či nevysvětlitelného chování. Velmi časté je ozvučování myšlenek, vkládání nebo odnímání myšlenek, bludné vnímání, pasivita nebo ovlivňování, sluchové halucinace, které komentují nebo diskutují o pacientovi ve třetí osobě a poruchy myšlení. Průběh schizofrenie je buď trvalý nebo epizodický (ÚZIS, 2008).

Epidemiologie:

Celoživotní riziko onemocnění je v populaci asi 1 %. Příbuzní prvního stupně, tzn. děti, rodiče a sourozenci nemocného mají riziko 6-13 %. Příbuzní druhého stupně, tzn. synovci, neteře a vnoučata mají riziko 4-6 %. Nemoc nejčastěji propuká mezi 17. a 30. rokem života (Hosák, a další, 2015).

Etiologie:

Příčinou schizofrenie je kombinace genetických vloh a vnější stres, ale podílejí se na ní i vlivy pre- a perinatální (infekce matky během II. trimestru těhotenství, porodní a poporodní komplikace a hladovění matky během těhotenství). Heritabilita schizofrenie se udává mezi 60 a 80 %. Pravděpodobnost vzniku schizofrenie u disponovaných osob vrůstá u jedinců zneužívajících omamné látky, jako jsou kanabinoidy a metamfetamin. Na základě celogenomových studií, bylo zjištěno, že se schizofrenními příznaky jsou spojeny tisíce genetických polymorfismů. Jedná se o varianty genů, které souvisí s metabolismem dopaminu a biogenních aminů, myelinizací axonů a regulací glutamátergního přenosu (Hosák, a další, 2015).

Patogeneze:

V patogenезi schizofrenie hraje významnou roli dopamin, ten ovlivňuje citlivost vůči podnětům motivujícím chování jedince a jejich výběr. Velký význam mají i serotonin a glutamát (Hosák, a další, 2015).

Studie:

Některé studie se zabývaly souvislostí schizofrenie a papilárních linií na prstech a dlaních rukou. Papilární linie vytvářejí na prstech a dlaních obrazce, které jsou zcela specifické pro každého jedince. Tyto obrazce nazýváme dermatoglyfy, vytvářejí se do konce druhého trimestru intrauterinního vývoje. Epidermis a centrální nervová soustava vnikají z ektodermu a dermatoglyfy tak mohou odrážet události ve vývoji ektodermu. Popis a analýza dermatoglyfů je užitečná při pátrání po potencionálním poškození jedince. U schizofrenie byla zjištěna řada odchylek v počtu papilárních linií na všech 10 prstech a v odchýlném průběhu papilárních linií (Davis, a další, 1996), (Španiel, a další, 2005).

Míru vývojové nestability můžeme popsat jako schopnost organismu odolávat mutacím a lze ji snadno měřit. Na základě analýzy dermatoglyfů lze snadno a přesně odečíst míru tzv. fluktuační asymetrie, například srovnáním počtu papilárních linií mezi definovanými strukturami na prvé a levé ruce. Vyšší míra fluktuační asymetrie byla opakovaně zjištěna u schizofrenie a je výsledkem působení negenetických faktorů (Davis, a další, 1996), (Španiel, a další, 2005).

Studie Španiela a dalších (2005) byla provedena na základě celorepublikové kampaně v ČR v letech 2001-2002. Ve studii bylo zkoumáno 12 párů MZD. Tato skupina byla rozdělena na tři podskupiny: sporadickou, familiární a kontrolní podskupinu. Všechny podskupiny obsahovaly čtyři páry MZD. Sporadickou podskupinu tvořily 4 páry diskordantních MZD (dva mužské a dva ženské páry s průměrným věkem 37 let) u nichž v rodinné anamnéze nebyla vůbec diagnostikována žádná psychická porucha. Familiární podskupinu tvořily čtyři páry konkordantních MZD (dva mužské a dva ženské páry s průměrným věkem 30 let). Tři páry dvojčat z familiární podskupiny vykazovaly v rodinné anamnéze schizofrenii. A kontrolní podskupinu tvořily 4 páry zdravých MZD. Ze všech podskupin vykazovala nejvyšší míru fluktuační asymetrie, podskupina diskordantních MZD. U této skupiny lze předpokládat výrazné vlivy vnějšího prostředí na vznik schizofrenie. Zprostředkovaně byly nalezeny známky environmentálního inzultu zasahujícího do vývoje ektodermu a tedy i mozku (Španiel, a další, 2005).

7.4 Obezita

Charakteristika onemocnění:

Obezita je nejčastější metabolickou chorobou dvacátého prvního století. Jde o multifaktoriálně podmíněné onemocnění, které je definované množstvím tělesného tuku. Vzniká vlivem pozitivní energetické bilance u jedinců s genetickou predispozicí. Z více než 50 % je obezita dána geneticky. Většina forem obezity je kódována více geny (polygenní dědičnost) a vzniká vzájemnou interakcí prostředí jak s geny přispívajícími k manifestaci obezity (obezigenní geny), tak s geny, které chrání jedince před vznikem obezity (leptogenní geny). Určité prostředí (obsah některých nutrientů v potravě) může měnit expresi obezigenních genů (Hainer, a další, 2002).

Epidemiologie:

Podle Světové zdravotnické organizace nabývá obezita charakteru celosvětové epidemie. Postihuje především obyvatele vyspělých zemí, ale v současnosti je též zaznamenán vzestup počtu obézních lidí i v rozvojových zemích. Alarmující je vzestup obézních dětí, mohou za to především špatné stravovací návyky a nedostatek fyzické aktivity (Hainer, a další, 2002).

Etiologie:

Podíl genetických faktorů a faktorů prostředí je při určování tělesné hmotnosti 2:3 a při určování zastoupení tuku v těle 1:1. Genetické faktory ovlivňují klidový energetický výdej, spontánní pohybovou aktivitu, schopnost spalovat tuky, energetický příjem působením na regulační centra v hypotalamu, výběr a preferenci potravin a rovněž návyk ke konzumaci některých pokrmů (Hainer, a další, 2002).

Patogeneze:

Hlavní funkcí tukové tkáně je vytvářet zásoby energie. Ale s patologicky zvýšenou hmotností vznikají i další komplikace: nahromadění lipidů (cholesterolu a esterů cholesterolu) v krvi podporující vznik aterosklerózy, zhoršení kardiopulmonálního aparátu a nadměrné zatěžování kloubů. Obezita souvisí i se zvýšenou pravděpodobností vzniku diabetu mellitu 2. typu (Mačák, a další, 2004).

Studie:

Při odhadování dědičnosti obezity se využívá indexu tělesné hmotnosti - z anglického body mass index (dále jen BMI). BMI lze vypočítat pomocí podílu tělesné hmotnosti (kg) a výšky² (cm). Korelační koeficient BMI dětí a jejich biologických rodičů je 0,20-0,37, mezi sourozenci je korelace BMI 0,22-0,35. Velmi vysoká korelace BMI 0,77-0,84 se zjišťuje u MZD (Hainer, a další, 2002), (Korkeila, a další, 1991), (Stunkard, a další, 1986).

Z některých studií vyplývá významnější úloha matky při určování genetické náchylnosti k obezitě. Genetické faktory ovlivňují BMI převážně v adolescenci a v dospělosti. Studie porovnávající BMI DZD a MZD ve věku dvaceti let prokázaly, dvakrát vyšší korelaci BMI u MZD ($r = 0,81$). Ve věku 45 let přetrvávala v témže souboru vyšší korelace BMI u MZD ($r = 0,67$) než u DZD ($r = 0,24$). Jestliže vnější faktory působí na MZD a DZD stejně, je pak podobnost BMI MZD důsledkem jejich identické genetické výbavy (Hainer, a další, 2002), (Korkeila, a další, 1991), (Stunkard, a další, 1986).

Studie Stunkarda a dalších (1960), zkoumala MZD, která byla po narození oddělena. Tato studie potvrdila významnou úlohu genetický faktorů oproti faktorům sdíleného prostředí. Vysoká korelace BMI se prokázala u MZD nezávisle na tom, zda žila po narození společně či odděleně (Stunkard, a další, 1960).

Bouchard a další (1990) sledovali genetické faktory ovlivňující změny hmotnosti. U dvanácti párů MZD mužského pohlaví byl zvýšen energetický příjem o 1000 kcal denně, po dobu 84 dnů. Odpovědí organismu na pozitivní energetickou bilanci, byl vzestup tělesné hmotnosti o 8,1 kg. Individuální rozdíly ve vzestupu hmotnosti byly značné, pohybovaly se od 4,3 do 13,3 kg. Vzestup hmotnosti uvnitř párů vykazoval významnou korelaci 0,55 (Bouchard, a další, 1990).

7.5 Onemocnění štítné žlázy

Štítná žláza je žláza s vnitřní sekrecí, produkuje hormony a tím ovlivňuje chod organismu. Hormony štítné žlázy se podílejí na regulaci látkové a energetické přeměny, jsou nezbytné pro správný vývoj centrální nervové soustavy a pro normální růst (Nečas, 2006).

Štítná žláza po stimulaci tyreotropinem produkuje tyroxin a trijodtyronin. Tyto hormony jsou vylučovány do krve, nevázané hormony reagují s intracelulárními receptory a ovlivňují metabolismus buněk. Zvyšují bazální metabolismus, podporují syntézu bílkovin a jsou nezbytné pro normální vývoj mozku a celkový růst. Štítná žláza rovněž obsahuje buňky produkující kalcitonin (Mačák, a další, 2004).

Zvětšení štítné žlázy se nazývá struma, většinou jde o hyperplazii nebo o adenomy a bývá hormonálně neaktivní. Při nedostatku jodu v potravě, hovoříme o strumě prosté, ta se častěji projevuje hypofunkcí žlázy (Mačák, a další, 2004).

Hyperfunkce štítné žlázy je známá pod pojmem Gravesova-Basedowova nemoc. Ke zvýšené funkci žlázy dochází mnohem častěji u žen, než u mužů. Jedná se o autoimunitní onemocnění, vytvářejí se autoprotilátky označované, jako tyreoidu stimulující imunoglobuliny. Příčina hyperfunkce štítné žlázy není dosud úplně objasněna. Protilátky můžeme najít u 85-90 % nemocných, váží se na receptory pro tyreotropin a tak dochází k trvalé stimulaci štítné žlázy. Zvyšuje se tak výdej tyroxinu a trijodtyroninu, to se projevuje zvýšením bazálního metabolismu, zvýšenou palpací, nervozitou, úbytkem váhy, celkovou slabostí a exoftalmem (Mačák, a další, 2004).

Hypofunkce štítné žlázy se objevuje při nedostatečné produkci hormonů. Podle příčiny můžeme dělit hypotyreózu do dvou skupin - periferní a centrální. Periferní hypotyreóza nastává při poruše přímo ve štítné žláze, pokud došlo k odstranění žlázy nebo při nedostatku jódu. Centrální hypotyreóza je vyvolána poruchou hypofýzy a projevuje se jako myxedém (hypotyreóza dospělých). Kretenismus (novorozenecká hypotyreóza) se objevuje v endemických oblastech s nedostatkem jódu. Dítě se rodí se strumou a se závažnou mentální retardací (Mačák, a další, 2004).

Studie:

Za posledních padesát let bylo provedeno zhruba 16 studií dvojčat. Z těchto studií vyplynulo, že výraznější korelace je v rámci páru MZD než u DZD, což potvrzuje významný vliv genetiky na vznik onemocnění štítné žlázy. Studie se lišily počtem probandů

i designem. Negativní vliv na štítnou žlázu má kouření, některé porodní charakteristiky a infekce *Yersinia enterocolitica* (Hansen, a další, 2006), (Hansen, a další, 2014).

Další studie se zabývaly výskytem endemické strumy (vzniká na podkladě nedostatku jodu v potravě), míra konkordance mezi MZD byla 83 %, zatímco u DZD jen 50-60 %. Genetický podíl byl odhadnut na 39 %. V neendemických oblastech byly tyto hodnoty nižší, výskyt sporadické strumy byl ale i tak mnohem vyšší u MZD než u DZD, odhad genetického podílu byl 82 % (Brix, a další, 1999), (Greig, a další, 1967), (Hansen, a další, 2014), (Malamos, a další, 1967).

Dosud se zabývaly problematikou autoimunitních onemocnění štítné žlázy pouze dvě studie, Worthingtona a dalších (1995) a Kyvika a dalších (1995). Obě dvě potvrdily vyšší míru konkordance výskytu onemocnění u MZD než u DZD, ale ani ve skupině MZD nebyla v průběhu 25letého sledování shoda úplná. Bylo odhadnuto, že genetika zodpovídala asi za 79 % onemocnění, environmentální faktory pak za 21 % (Kyvik, a další, 1995), (Worthington, a další, 1995).

7.6 Nádorová onemocnění

Charakteristika onemocnění:

Nádor je shluk abnormálních buněk, které rostou rozdílně od normálních buněk. Dochází k nezvratným změnám tkáně a neregulovanému růstu buněk. Obecně označujeme nádory jako blastomy nebo neoplazie. Jednotlivé typy nádorů nazýváme podle tkáně, ze které vychází, a přidáme příponu – om. Podle chování a morfologie nádorové buňky určujeme závažnost nádoru (nádory benigní a maligní) (Fölsch, a další, 2000), (Mačák, a další, 2004).

Epidemiologie:

V dnešní době jsou nádorová onemocnění na druhém místě mezi příčinami smrti ve vyspělých zemích. Výskyt jednotlivých typů nádorů je odlišný v různých částech světa a u různých etnik. Příkladem může být vysoký výskyt karcinomu žaludku v Japonsku v porovnání se Spojenými státy Americkými, nebo vysoký výskyt karcinomu nosohltanu na Tchaj-wanu. V České republice neustále vzrůstá procento postižených mužů karcinomem plic, i když v jiných státech incidence pomalu klesá. Nejčastějším zhoubným nádorem u žen je karcinom prsu. Kolorektální karcinom postihuje především obyvatele vyspělých států Evropy a Spojených států Amerických. Z epidemiologických studií vyplývá, že rozhodujícím rizikovým faktorem byla výživa (Benecko, a další, 2003). Podle některých údajů je výskyt nádorů 1,5krát častější u mužů než u žen (Mačák, a další, 2004).

Etiologie:

Hlavní příčinou většiny nádorů je kombinace genetických a vnějších faktorů (chemické látky zevního prostředí = karcinogeny, fyzikální vlivy - hlavně záření, viry, hormony, pracovní prostředí a životní styl). Jedním z nejdůležitějších rizikových faktorů je věk. S vrůstající dobou dožití vzrůstá i incidence některých nádorů. Se stoupajícím věkem dochází ke kumulaci spontánních mutací, ke genetické nestabilitě a tím se dále zvyšuje riziko výskytu jak spontánních, tak indukovaných mutací. Dalším, neméně důležitým faktorem je kouření. To je spojeno především s karcinomem plic, ale kouření může způsobovat vznik i jiných nádorů, například rakovinu pankreatu, nádory dutiny ústní, jícnu, hltanu a hrtanu (Benecko, a další, 2003), (Mačák, a další, 2004).

Patogeneze:

Karcinogeny a viry vyvolávají v buňce změny genomu. Vyrůstající počet odchylek vede ke vzniku onkogenů a nakonec k nádorové transformaci. Nádory rostou autonomně a pro tvorbu vlastních buněk berou živiny z celého organismu. Pro nádory je typická porucha regulace apoptózy, nedochází k buněčné smrti a buňky neustále proliferují (Fölsch, a další, 2000), (Mačák, a další, 2004).

Studie:

Metody molekulární biologie jsou nedílnou součástí dvojčecích studií, napomáhají odhalovat genetické faktory ovlivňující vznik rakoviny a jiných nemocí. Z nedávných studií můžeme vyvodit následující závěry. Příčinou rakoviny jsou v první řadě vnější faktory a geny hrají pouze omezenou roli (ale vždy záleží na určitém druhu rakoviny!). Všechny druhy rakovin jsou familiární zhruba ve stejné míře a jsou dány multifaktoriální dědičností (Risch, 2001).

Studie dvojčat Brauna a dalších (1994), která zkoumala téměř 16 000 válečných veteránů (dvojčat mužského pohlaví), neodhalila zvýšenou shodu v úmrtnosti na rakovinu plic u MZD oproti DZD (navzdory tomu, že byla pozorována zvýšená konkordance pro kouření u MZD). To vedlo autory studie k závěru, že genetické faktory mají pouze malý vliv na vznik rakoviny plic. U stejné kohorty dvojčat byla provedena studie Braunem a dalšími (1995) a zkoumala úmrtnost na všechny druhy rakoviny. Zde byl odhadnut poměr konkordance MZD: DZD na 1,4, což naznačovalo, že genetické faktory mají jen mírný vliv na vznik rakoviny. Ve studii Page a dalších (1997) bylo u této kohorty sledováno riziko vzniku rakoviny prostaty. V tomto případě byla konkordance u MZD odhadnuta na 27,1 % a 7,1 % u DZD. A poměr konkordancí MZD: DZD byl 3,8, což naznačovalo, že genetické faktory mají poměrně velký vliv na vznik rakoviny prostaty. Page a další (1997) odhadli heritabilitu zhruba na 57 % (Braun, a další, 1994), (Braun, a další, 1995), (Page, a další, 1997).

Severské země Evropy, jsou ideálním místem pro populační studie dvojčat, protože mají rozsáhlé registry obyvatel. Například Švédský onkologický registr dvojčat obsahuje kohorty narozené mezi lety 1886 až 1925 (s 10 503 páry dvojčat) a 1926 až 1958 (s 12 883 páry dvojčat). Autoři studie Ahlbom a další (1997) našli vyšší míru konkordance u MZD oproti DZD u rakoviny tlustého střeva, prsu, děložního čípku a prostaty, což naznačuje, že velký vliv mají právě genetické faktory. Naopak u rakoviny žaludku a plic, byly míry konkordancí u MZD a DZD srovnatelné (Ahlbom, a další, 1997).

8 Závěr

Dvojčata poskytují jedinečnou možnost zkoumání genetických znaků u lidí. Mnohé genetické testy jsou z morálního hlediska zakázány. A není proto divu, že se někteří vědci zabývají právě studiem dvojčat. Monozygotní dvojčata jsou jediní dva jedinci s prakticky identickou genetickou výbavou. V porovnání s dizygotními dvojčaty, pak tvoří ideální vzorky pro bádání.

Komplexní onemocnění jsou způsobena, jak genetickými, tak vnějšími faktory a soubor všech těchto faktorů se projeví ve fenotypu. Epigenetika se zabývá právě změnami fenotypu, které byly způsobeny vnějšími faktory, aniž by došlo ke změně primární struktury DNA.

Geminologické metody pomohly odhalit etiologii některých onemocnění. V případě revmatoidní artritidy jsou genetické faktory zodpovědné za vznik onemocnění zhruba ve 12 % a z 50 % můžou za vznik revmatoidní artritidy vnější vlivy. U autismu je heritabilita odhadována okolo 90% a prevalence 0,44/1000 dětí, a proto bude důležité do budoucna s tímto onemocněním počítat. Velmi závažným psychickým onemocněním je schizofrenie, heritabilita je odhadována mezi 60-80 % a pravděpodobnost výskytu u příbuzného prvního stupně je 6-13 %. Obezita je globálně velký problém a nabývá charakteru celosvětové epidemie. Obezita je z 50 % vrozená, ale zvyšující se incidence v populaci je spíše přisuzována špatnému životnímu stylu. Příčina onemocnění štítné žlázy je z větší části způsobena genetickými faktory, z vnějších vlivů nejvíce působí na vznik onemocnění kouření a některé porodní charakteristiky. Nádorová onemocnění jsou na druhém místě mezi příčinami smrti ve vyspělých zemích. Nádorových onemocnění v populaci přibývá, nejen kvůli špatnému životnímu stylu, ale také kvůli zvyšujícímu se věku dožití.

9 Použité zkratky

ACPA	Protilátka proti citrulinovaným proteinům
BMI	Index tělesné hmotnosti
DZD	Dizygotní dvojčata
DZD _{ss}	Dizygotní dvojčata stejného pohlaví
DZD _{ss/os}	Dizygotní dvojčata stejného a opačného pohlaví
MZD	Monozygotní dvojčata
PAS	Poruchy autistického spektra
RA	Revmatoidní artritida

10Seznam tabulek

Tabulka 1 - Údaje o epilepsii u dvojčat	- 14 -
Tabulka 2 - Výsledky dvojčecí studie revmatoidní artritidy	- 25 -
Tabulka 3 - Míry konkordancí u revmatoidní artritidy v dánské populaci dvojčat	- 26 -

11Seznam obrázků

Obrázek 1 - Rozdělení monozygotních dvojčat dle chorionicity a amnionicity	- 10 -
Obrázek 2 - Komplexní onemocnění	- 17 -
Obrázek 3 – Metylace DNA a modifikace histonů.....	- 20 -
Obrázek 4 – Věk nástupu a míra konkordance u různých onemocnění u MZD.....	- 21 -

12 Citovaná literatura

Ahlbom, A, Lichtenstein, P, Malmstrom, H, Feychting, M, Hemminki, K a Pedersen, N. Cancer in twins: genetic and nongenetic familial risk factors. *J. Natl. Cancer Inst.* 1997, 89, stránky 287–293.

Aho, K, Koskenvuo, M, Tuominen, J a Kaprio, J. Occurrence of rheumatoid arthritis in a nationwide series of twins. *JRheumatol.* 1986, 13, stránky 899-902.

Alberts, B. *Základy buněčné biologie: úvod do molekulární biologie buňky.* Ústí nad Labem : Espero, 1998. stránky 305-308. Sv. XXXVI. ISBN 80-902-9060-4.

Bell, JT a Spector, TD. A twin approach to unraveling epigenetics. *Trends in Genetics.* Březen 2011, Sv. 27, 3, stránky 116-125.

Benecko, V, Hrach, M, Malý, H, Pikhart, J, Reissigová, J, Svačina, Š, Tomečková, M a Zvárová, J. *Biomedicínská statistika- III. Statistické metody v epidemiologii.* Praha : EuroMISE, 2003. Sv. II. ISBN 80-246-0764-6.

Bolton, P, Macdonald, H, Pickles, A, Rios, P, Goode, S, Crowson, M, Bailey, A a Rutter, M. A case-control family history study of autism. *J Child Psychol Psychiatry.* 1994, 35(5), stránky 877-900.

Bouchard, C, Tremblay, A a Despres, JP. The response to long-term overfeeding in identical twins. *N Engl J Med.* 1990, 322, stránky 1477–1482.

Braun, M, Caporaso, N, Page, W a Hoover, R. A cohort study of twins and cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarker. Prev.* 1995, 4, stránky 469–473.

Braun, M, Caporaso, N, Page, W a Hoover, R. 194. Genetic component of lung cancer: cohort study of twins. *Lancet.* 1994, 344, stránky 440–443.

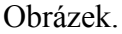
Brix, TH, Kyvik, KO a Hegedüs, L. Major role of genes in the etiology of simple goiter in females: a population-based twin study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999, 84, stránky 3071-3075.

Carey, G. Human Genetics for the Social Sciences. *Department of Psychology andmInstitute for Behavioral Genetics University of Colorado.* [Online] 2000. [Citace: 7. březen 2016.] <http://psych.colorado.edu/~carey/hgss/hgssadvanced/twinconcordance.pdf>.

Constantino, JN, Zhang, Y, Frazier, T, Abbacchi, AM a Law, P. Sibling recurrence and the genetic epidemiology of autism . *Am J Psychiatr.* 2010, 167(11), stránky 1349-1356.

Červinka, M. eLFHK webová knihovna. *Lékařská biologie II.* [Online] 2014. [Citace: 28. únor 2015.] e-učebnice, 10. kapitola- Metody lidské genetiky. <https://publi.cz/books/95/10.html>.

Davis, JO a Bracha, HS. Prenatal growth markers in schizophrenia: A monozygotic co-twin control study. *American Journal of Psychiatry.* 1996, 153.9, stránky 1166–1172.

Dufendach, K. *Wikimedia commons.* [Online] 1. Prosinec 2008. [Citace: 21. Listopad 2015.]  <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/9/93/Placentation.svg/2000px-Placentation.svg.png>.

Duncan, T. *Statistical methods in genetic epidemiology.* New York : Oxford University Press, 2004. str. 123. ISBN 0-19-515939-X.

Fölsch, U, Kochsiek, K a Schmidt, R. *Patologická fyziologie.* Berlin : Grada Publishing a.s., 2000. stránky 33-43. ISBN 80-247-0319-X.

Fraga, M.F. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2005, 102, stránky 10604–10609.

Gardener, H, Spiegelman, D a Buka, SL. Prenatal risk factors for autism: comprehensive meta-analysis. *Br J Psychiatry.* 2009, 195(1), stránky 7-14.

Greig, WR, a další. Genetic and non-genetic factors in simple goitre formation: evidence from a twin study. *Q J Med.* 1967, 36, stránky 175-188.

Hainer, V, Kunešová, M a Bendlová, B. Zdraví.e15, Postgraduální medicína. *Úloha genetických faktorů v etiopatogenezi obezity.* [Online] 17. květen 2002. [Citace: 24. březen 2016.] Podpořeno grantem COST B17-40. <http://zdravi.e15.cz/clanek/postgradualni-medicina/uloha-geneticky-faktoru-v-etipatogenezi-obezity-145095>.

Hallmayer, J, Cleveland, S, Torres, A, Phillips, J, Cohen, B, Torigoe, T, Miller, J, Fedele, A, Collins, J, Smith, K, Lotspeich, L, Croen, L, Ozonoff, S, Lajonchere, C, Grether, J a Risch, N. Genetic Heritability and Shared Environmental Factors Among

Twin Pairs With Autism. *Arch Gen Psychiatry*. 2011, Sv. 68, 11, stránky 1095-1102. doi:10.1001/archgenpsychiatry.2011.76.

Hansen, P, Heiberg, B a Hegedüs, L. *Výskyt onemocnění štítní žlázy- studie na dvojčatech.* místo neznámé : © 2008-2016 MeDitorial, 2014. proLékaře.cz. <http://www.prolekare.cz/poruchy-stitne-zlazy-novinky/vyskyt-onemocneni-stitne-zlazy-studie-na-dvojcatech-4017>. ISSN 1803-6597.

Hansen, PS, Wenzel, BE, Brix, TH a Hegedüs, L. Yersinia enterocolitica infection does not confer an increased risk of thyroid antibodies: evidence from a Danish twin study. *Clin Exp Immuno*. 2006, 146, stránky 32-38.

Hawkes, C.H. Twin studies in medicine- what do they tell us? *JQ Med*. 1997, 90, stránky 311-321.

Heyn, H, Carmona, F a Gomez, A. DNA methylation profiling in breast cancer discordant identical twins identifies DOK7 as novel epigenetic biomarker. *Carcinogenesis*. 2012. doi: 10.1093/carcin/bgs321.

Holliday, R. Epigenetics: an overview. *Dev. Genet*. 1994, 15, stránky 453–457.

Hosák, L, Hrdlička, M a Liberg, J. *Psychiatrie a podopsychiatrie*. Praha : Karolinum, 2015. stránky 182-186, 341-346. ISBN 978-80-246-2998-8.

Houdek, Z. Centrum biologie a geověd. *Dědičnost komplexních a kvantitativních znaků*. [Online] 2010. [Citace: 2. březen 2016.] http://www.kbi.zcu.cz/OB/studium/ftp/gene/gene_p07.pdf.

Hrubá, D, Šikolová, V, Kunzová, Š a Kašíková, K. Úloha kouření v epigenetické modifikaci fenotypu: nejnovější poznatky o patologických procesech vyvolaných kouřením. *Rukopis*. Brno : Ústav preventivního lékařství, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, 2012.

Kočárek, E. *Genetika*. Praha : Scientia, 2008. ISBN 978-80-86960-36-4.

Korkeila, M, Kaprio, J a Rissanen, A. Effects of gender and age on the heritability of body mass index. *Int J Obes*. 1991, 15, stránky 647–654.

Kyvik, KO, Green, A a Beck-Nielsen, H. Concordance rates of insulin dependent diabetes mellitus: a population based study of young Danish twins. *BMJ*. 1995, 311, stránky 913-917.

MacGregor, AJ, Bamber, S a Silman, AJ. A comparison of the performance of different methods of disease classification for rheumatoid arthritis. Results of an analysis from a nationwide twin study. *JRheumatol*. 1994, 21, stránky 1420–1426.

Mačák, J a Mačáková, J. *Patologie*. místo neznámé : Grada Publishing a.s., 2004. stránky 33, 123-154, 268-272, 316. ISBN 8024707853.

Malamos, B, Koutras, DA, Kostamis, P, Rigopoulos, GA, Zerefos, NS a Yataganas, XA. Endemic goitre in Greece: a study of 379 twin pairs. *J Med Genet*. 1967, 4, stránky 16-18.

Maříková, T a Seemanová, E. *Klinická genetika*. Praha : Karolinum, 2013. stránky 10-23. ISBN 978-80-246-2318-4.

Nečas, E. *Patologická fyziologie orgánových systémů, část II*. Praha : Karolinum, 2006. str. 545. ISBN 80-246-0674-7.

Neradil, J. is.muni. *Fertilizace a embryogeneze*. [Online] Květen 2012. [Citace: 21. Listopad 2015.] https://is.muni.cz/el/1431/jaro2012/Bi8120/um/2012_05_Fertilizace_a_embryogeneze_TIS_K.pdf.

Otová, B a Mihalová, R. *Základy biologie a genetiky člověka*. místo neznámé : Karolinum Press, 2013. stránky 39-40. ISBN 9788024621098.

Page, W, Braun, M, Partin, A, Caporaso, N a Walsh, P. Heredity and prostate cancer: a study of World War II veteran twins. *Prostate*. 1997, 33, stránky 240–245.

Papanikolaou, EG, Fatemi, H, Venetis, Ch, Donoso, P, Kolibianakis, E, Tournaye, H, Tarlatzis, B a Devroey, P. Monozygotic twinning is not increased after single blastocyst transfer compared with single cleavage-stage embryo transfer. *Fertil Steril*. 15. Leden 2010, Sv. 93, 2, stránky 592-597.

Petronis, A. Epigenetics and twins: three variations on the theme. *Trends in genetic*. 2006, 22, stránky 347-350.

Ramsahoye, B.H. Non-CpG methylation is prevalent in embryonic stem cells and may be mediated by DNAmethyltransferase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2000, 97, stránky 5237–5242.

Risch, N. The Genetic Epidemiology of Cancer: Interpreting Family and Twin Studies and Their Implications for Molecular Genetic Approaches. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2001, Sv. 10, stránky 733-741.

Russo, V. Epigenetic Mechanisms of Gene Regulation. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*. 1996.

Silman, AJ, MacGregor, AJ, Thomson, W, Holligan, S a Carthy, D. Twin concordance rates for rheumatoid arthritis: results from a nationwide study. *BrJRheumatol*. 1993, 32, stránky 903-907.

Skytthe, A, Kyvik, K, Bathum, L, Holm, N a Vaupel, JW. The Danish Twin Registry in the new millennium. *TwinResHumGenet*. 2006, 9, stránky 763–771.

Stoltenberg, C, Schjølberg, S, Bresnahan, M, Hornig, M, Hirtz, D, Dahl, C, Lie, K, Reichborn-Kjennerud, T, Schreuder, P, Alsaker, E, Øyen, A, Magnus, P, Surén, P, Susser, E a Lipkin, WI. The Autism Birth Cohort: a paradigm for gene-environment-timing research. *ABC Study Group, Mol Psychiatry*. 2010, 15(7), stránky 676-680.

Stunard, AJ, Harris, JR a Pedersen, NL. The body mass index of twins who have been reared apart. *N Engl J Med*. 1960, 322, stránky 1483–1487.

Stunkard, AJ, Foch, TT a Hrubec, Z. A twin study of human obesity. *Jama*. 1986, 256, stránky 52–54.

Suchý, D. Revmatoidní artritida – Diagnóza a léčba. *Interní medicína v praxi*. 2003, stránky 342-347.

Sumi, S, Taniai, H, Miyachi, T a Tanemura, M. Sibling risk of pervasive developmental disorder estimated by means of an epidemiologic survey in Nagoya, Japan. *J Hum Genet*. 2006, 51(6), stránky 518-522.

Svendsen, AJ, Kyvik, KO, Houen, G, Junker, P a Christensen, K. 2013. On the Origin of Rheumatoid Arthritis: The Impact of Environment and Genes- A Population Based Twin Study. *PLoS ONE*. 28. únor 2013, 8(2): e57304. doi:10.1371/journal.pone.0057304.

Svendsen, AJ, Holm, NV, Kyvik, K, Petersen, PH a Junke, P. Relative importance of genetic effects in rheumatoid arthritis: historical cohort study of Danish nationwide twin population. *BMJ*. 2002, 324, stránky 264–266.

Šeda, O, Liška, F a Šedová, L. Multimediální učebnice lékařské biologie, genetiky a genomiky. *Aktuální genetika*. [Online] 2005-2006. [Citace: 24. únor 2016.] <http://biol.lf1.cuni.cz/ucebnice/autori.htm>.

Šípek, A. Dvojčata, aneb o abnormálním oplození. *Gate2biotech*. [Online] © 2006 - 2015 Jihočeská agentura pro podporu inovačního podnikání o.p.s., 11. Únor 2010. [Citace: 21. Listopad 2015.] <http://www.gate2biotech.cz/dvojcata-aneb-o-abnormalnim-oplozeni/>. ISSN 1802-2685.

Šípek, A. Epigenetika způsobuje různé riziko vzniku nádorů u jednovaječných dvojčat. *Gate2biotech*. [Online] © 2006 - 2015 Jihočeská agentura pro podporu inovačního podnikání o.p.s., 15. Listopad 2012. [Citace: 21. Listopad 2015.] <http://www.gate2biotech.cz/epigenetika-zpusobuje-ruzne-riziko-vzniku-nadoru-u-jednovajecnych-dvojcat/>. ISSN 1802-2685.

Španiel, F, Tintěra, J, Horáček, J, Dezortová, M a Hájek, M. Vývojová nestabilita, geny, lateralizace mozku a schizofrenie: příběh s otevřeným mozkem. *Psychiatrie*. 2005, Sv. III, 17. Psychiatrické centrum Praha.

Tauwinklová, G. Rigorózní práce. *Faktory a mechanismy ovlivňující výskyt monozygotních dvojčat v asistované reprodukci*. Brno: Masarykova Univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav experimentální biologie, Oddělení fyziologie a imunologie živočichů, 2011. stránky 8-18.

Urban, T. Virtuální svět genetiky 3. *Genetika populací a kvantitativních znaků*. [Online] ©2008 TGU, 2008. [Citace: 2. březen 2016.] Aktualizováno: 03.02.2015. <http://user.mendelu.cz/urban/vsg3/kvantita/kvant5b.html>.

ÚZIS. *Mezinárodní klasifikace nemocí- Mezinárodní statistická klasifikace nemocí a přidružených zdravotních problémů*. Geneva: World Health Organization, 2008. Sv. desátá revize: aktualizovaná druhá verze k 1.4. 2014, <http://www.uzis.cz/zpravy/upravena-verze-mkn-10>. ISBN 978-80-904259-0-3.

Waddington, C. The epigenotype. *Endeavour*. 1942, 1, stránky 18-20.

Worthington, J a Silman, AJ. Genetic control of autoimmunity, lessons from twin studies. *Clin Exp Immunol.* 1995, 101, stránky 390-392.